



Vendi

Perifeerisen veren valkosolujen erittelylaskentaa simuloiva harjoitusohjelma

Ville Huotari, Mikko Ruotsalainen

Opinnäytetyö

Ammattikorkeakoulututkinto

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala			
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma			
Työn tekijä(t) Huotari Ville ja Ruotsalainen Mikko			
Työn nimi Vendi – Perifeerisen veren valkosolujen erittelylaskentaa simuloiva harjoitusohjelma			
Päiväys	29.11.2011	Sivumäärä/Liitteet	31/2
Ohjaaja(t) lehtori Eila Räsänen			
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu, Hyvinvointi Kuopio			
<p>Tiivistelmä</p> <p>Bioanalytiikan koulutusohjelmaan sisältyy kliinisen hematologian opintoja. Kliinisen hematologian keskeisiin sisältöihin kuuluu muun muassa verisolujen tutkimisessa käytettävät menetelmät ja valkosolusairaudet, joihin valkosolujen tunnistaminen voimakkaasti liittyy.</p> <p>Verenkuva on yksi tärkeimpiä ja eniten pyydettyjä laboratoriotutkimuksia, ja siksi veren valkosolujen erittelylaskenta on tärkeä osa bioanalyttikon työtä. Verenkuva on tutkimus, jolla pystytään selvittämään eri verisolujen määrä ja verisoluihin liittyviä ominaisuuksia. Verenkuvatutkimukseen kuuluu manuaalinen erittelylaskenta mikäli automaattianalysointilaite antaa normaalista poikkeavasta tuloksesta johtuvan hälytyksen. Erittelylaskennassa määritetään eri valkosolujen määrien suhdellu- vut. Erittelylaskenta on erityisen tärkeä leukopenian ja leukosytoosin syyn selvittämiseksi. Myös erilaisten veritautien diagnostiikka tai niiden sulkeminen pois vaatii valkosolujen erittelylaskentaa.</p> <p>Tässä opinnäytetyössä tuotettiin erittelylaskentaa simuloiva harjoitusohjelma, jonka avulla perifeerisen veren valkosolujen erittelylaskentaa voi harjoitella tietotekniikkaa hyödyntäen myös muualla kuin mikroskoopin ääressä. Työn tavoitteena on kehittää bioanalyttikko-opiskelijoiden ammattitaitoa valkosolujen erittelylaskennassa ja siten parantaa erittelylaskentatulosten, veritautidiagnostiikan ja hoidon laatua.</p> <p>Opinnäytetyönä tehty ohjelma soveltuu bioanalytiikan koulutusohjelman opiskelijoille hematologisten solujen tunnistamisen harjoitteluun ja jo työelämässä oleville bioanalytikoille tunnistustaitojen ylläpitämiseen.</p>			
Avainsanat Erityylaskenta, valkosolut, verenkuva			

SAVONIA UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Huotari Ville, Ruotsalainen Mikko			
Title of Thesis Vendi – Training program that simulates manual method of leukocyte differential count			
Date	29.11.2011	Pages/Appendices	31/2
Supervisor(s) Senior lecturer Eila Räsänen			
Client Organisation/Partners Savonia university of applied sciences			
<p>Abstract</p> <p>Blood count is one of the most important and most frequently ordered laboratory examinations, and therefore leukocyte differential count is an important part of biomedical laboratory scientists' work. Blood count is an examination which gives information about the amount and quality of different kind of blood cells in peripheral blood at the moment the sample has been taken. Leukocyte differential count can be performed with automated instruments, but these instruments are not yet able to identify immature leukocytes with needed level of reliability. At this occasion manual method of leukocyte differential count is used to ensure the quality of the result. Manual method of leukocyte differential count is used always when an automated instrument gives an alarm of abnormal leukocyte differential count.</p> <p>Quality control of leukocyte differential count is an essential factor for high-class diagnostics and treatment, and therefore experience in leukocyte differential count is exceedingly important for medical laboratory scientists.</p> <p>The intention of this study was to make a practicing program for training manual method of leukocyte differential count regardless of time and place.</p> <p>The aim of this study is to increase biomedical laboratory scientist students' skills and knowledge in manual method of leukocyte differential count and therefore also increase the quality of diagnostics and treatment.</p>			
<p>Keywords</p> <p>Leukocyte differential count, white blood cells, blood count</p>			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO.....	6
2	PERIFEERISEN VEREN VALKOSOLUJEN ERITTELYLASKENTA	8
2.1	Sivelyvalmiste.....	8
2.2	Veren valkosolut.....	9
2.2.1	Perifeerisen veren valkosolut.....	9
2.2.2	Luuytimen valkosolut.....	10
3	LEUKEMIAT	12
3.1	Krooninen myeloinen leukemia.....	12
3.2	Krooninen lymfaattinen leukemia	12
3.3	Akuutit leukemiat.....	13
4	VERKKO-OPISKELU JA OHJELMOINTIKIELET	14
4.1	Interaktiivinen verkkoympäristö	15
4.2	Ohjelmointikielet.....	15
5	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET	16
6	TYÖN TOTEUTUS.....	17
6.1	Teoriatiedon haku.....	17
6.2	Valkosolujen kuvaaminen	17
6.3	Ohjelma.....	19
6.3.1	Ohjelmointi.....	19
6.3.2	Ohjelman käyttö	21
7	POHDINTA	23
7.1	Ohjelman testaaminen	25
7.2	Ohjelman käytettävyys.....	25
7.3	Kehittämismahdollisuuksia	26
8	LÄHTEET	28

LIITTEET

Liite 1: Esimerkkikuvia veren valkosoluista

Liite 2: Vendi - Erittelylaskennan harjoitteluohjelma CD-ROM

1 JOHDANTO

Bioanalytiikan koulutusohjelman ammattiopintoihin sisältyy kliinisen hematologian opintoja. Kliinisen hematologian keskeisiin sisältöihin kuuluu muun muassa verisolujen tutkimisessa käytettävät menetelmät ja valkosolusairaudet, joihin valkosolujen tunnistaminen voimakkaasti liittyy. (Opetussuunnitelma 2011.)

Verenkuva on yksi tärkeimpiä ja eniten pyydettyjä laboratoriotutkimuksia, ja siksi veren valkosolujen erittelylaskenta on tärkeä osa bioanalyytikon työtä. Verenkuva on tutkimus, jolla pystytään selvittämään eri verisolujen määrä ja verisoluihin liittyviä ominaisuuksia. Verenkuvatutkimukseen sisältyy manuaalinen erittelylaskenta mikäli automaattianalysaattori antaa normaalista poikkeavasta tuloksesta johtuvan hälytyksen. Erittelylaskennassa määritetään eri valkosolujen määrien suhdeluvut. Erittelylaskenta on erityisen tärkeä leukopenian ja leukosytoosin syyn selvittämiseksi. Leukopenia tarkoittaa viitearvoihin nähden alhaista leukosyyttien määrää ja leukosytoosi viitearvoihin nähden suurta määrää leukosyyttejä. Myös erilaisten veritautien diagnostiikka tai niiden sulkeminen pois vaatii valkosolujen erittelylaskentaa. (Siitonen & Jansson 2007, 100).

Erittelylaskentaa voidaan tehdä koneellisesti, mutta automaatio ei kuitenkaan kykene tunnistamaan riittävällä luotettavuudella varsinkaan pahanlaatuisissa verisairauksissa esiintyviä solumuotoja. Tällöin suoritetaan erittelylaskenta manuaalisesti mikroskoopin avulla sivelyvalmisteesta. Erittelylaskennan tuloksen luotettavuus on tärkeää diagnostiikan ja hoidon näkökulmasta, ja siksi erittelylaskennan hallitseminen on bioanalyytikon ammatissa välttämätöntä. (Savolainen 2007, 88, 92.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa erittelylaskentaa simuloiva harjoitusohjelma, jonka avulla perifeerisen veren valkosolujen erittelylaskentaa voi harjoitella myös muualla kuin mikroskoopin ääressä. Opinnäytetyön tavoitteena on lisätä bioanalytiikan opiskelijoiden mahdollisuuksia harjoitella perifeerisen veren valkosolujen erittelylaskentaa ja tukea siten ammatillista kehittymistä. Opinnäytetyön tavoitteena on myös opiskelijoiden ammattitaidon kehittämisellä lisätä tutkimustulosten, potilaan diagnostiikan ja hoidon laatua.

Opinnäytetyön aihe tuli Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelmasta. Opinnäytetyön aiheen taustalla on valkosolujen tunnistamisen haastavuus.

Tunnistaminen vaatii paljon harjoittelua, ja harjoitustunteja hematologian kurssien yhteydessä on vain rajoitettu määrä. Uuden oppimateriaalin tuottaminen kliinisen hematologian opintoja tukemaan on tarpeellista ja ajankohtaista, koska toistaiseksi ei ole olemassa paljoa itseopiskelumateriaalia hematologisten solujen tunnistamisen harjoitteluun.

Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelmassa kursseihin sisältyy runsaasti itsenäistä opiskelua. Kliinisen hematologian opinnoissa itseopiskelumahdollisuudet ovat kuitenkin vähäisen oppimateriaalin ja lähes olemattomien itsenäisen harjoittelun mahdollisuuksien vuoksi heikot. Opinnäytetyönä tuotettu ohjelma lisää itsenäisen harjoittelun mahdollisuuksia oleellisesti ja sopii siksi erinomaisesti täydentämään kliinisen hematologian opintoja.

2 PERIFEERISEN VEREN VALKOSOLUJEN ERITTELYLASKENTA

Erittelylaskenta tarkoittaa sivelyvalmisteiden solujen erittelyä mikroskooppisen tarkastelun avulla. Perifeerisen veren valkosolujen erittelylaskennassa lasketaan yleensä 100-200 valkosolua, jotka eritellään prosenttiosuuksiin morfologian perusteella. Valkosolujen erittelylaskentaa käytetään leukosytoosin ja -penian selvittämiseksi tai veritaudin diagnosoimiseksi. Tutkimusta käytetään myös hoitovasteen seurantaan. (Siitonen & Jansson 2007, 100-103.) Valkosolujen varhaismuotoja voidaan tunnistaa luotettavasti ainoastaan mikroskooppisilla morfologisilla menetelmillä. (Savolainen 2007, 95.)

2.1 Sivelyvalmiste

Sivelyvalmisteella tarkoitetaan objektilasia, jolle on levitetty ohut kerros tutkittavaa verta. Sivelyvalmisteiden tekemiseen voidaan käyttää joko EDTA-laskimoverta tai kapillaarivertaa. Sivelyvalmiste tuotetaan tiputtamalla objektilasille sopivan kokoinen pisara (n. 50 µl) näytettä. Pisara levitetään objektilasille käyttämällä vetolasia. Lasille levitettynä sivelyn leveyden tulisi olla n. 18 mm ja pituuden n. 3 cm. Sivelyn oikean paksuuden saa selville mikroskoipoitaessa. Oikean paksuisesta sivelystä löytyy alue, jolla punasolut ovat erillään ja valkosolut helposti tunnistettavissa. Sivelyvalmiste kuivataan, kiinnitetään ja värjätään ennen mikroskopointia. (Turgeon 1993, 23; Bain & Lewis 2001, 47-51.)

Suomessa värjätään perifeerisen veren ja luuytimen sivelyvalmisteet klassisella MGG-tekniikalla (May-Grünwald Giemsa). May-Grünwaldin reagenssi koostuu eosini Y:stä ja metyleenisinistä. Ensin mainittu värjää punasolut punertaviksi, jälkimmäinen leukosyyttien eli valkosolujen tumat sinisiksi. Giemsa-reagenssi koostuu eosini Y:stä metyleenisinistä ja atsuuri B:stä, jotka yhdessä eosinin kanssa värjäävät leukosyyttien eri granulat puna-sinisiksi. (Siitonen & Jansson 2007, 100-103.)

Sivelyvalmisteiden mikroskooppinen tutkiminen vaatii hyvälaatuisen mikroskoopin. Mikroskoopin tubuskertoimen ollessa 1, sopivat 10x suurentavat okulaarit käyttöön parhaiten. Yleisimmin erittelylaskennassa käytetään 50x suurentavaa öljyimmersio-objektiivia, mutta joissakin erityistapauksissa myös 100x suurentavaa, jolloin kokonaissuurennos on 500- tai 1000-kertainen. Mikroskooppinen erittelylaskennan tulos on huonosti toistettavissa vähäisen leukosyyttitannan vuoksi, mutta se on erittäin

tärkeä osaamisalue patologisten solujen tunnistamiseksi. (Siitonen ym. 2007, 100-103.)

Valkosolujen morfologiaa tarkastellessa huomiota kiinnitetään erityisesti tuman muotoon ja kokoon sekä rakenteeseen ja värjäytymiseen. Tuma-sytoplasmasuhde ja sytoplasman väri on myös merkittävä tarkastelun kohde. Huomiota kiinnitetään myös granuloihin, mikäli niitä on. Tarkastellessa huomioidaan granuloiden väri ja koko. Mikäli poikkeavuuksia löytyy ne on otettava huomioon. (Turgeon 1993, 344.)

Erittelylaskenta tulisi tehdä systemaattisesti aloittaen sivelyvalmisteen makroskooppisella tarkastelulla. Tarkastelussa kiinnitetään huomiota sivelyvalmisteen laatuun solujen leviämiseen ja värjäytymiseen. Tarkastelussa voidaan myös arvioida mahdollisia artefakteja. Ennen mikroskooppista tarkastelua on suositeltavaa päällystää sivelyvalmiste peitinlasilla. Seuraavaksi tulisi tehdä esitarkistus käyttäen 10x-objektiivia, jolloin voidaan arvioida sivelyvalmisteen laatua tarkemmin. Esitarkistuksessa löydetään myös paikka, josta erittelylaskenta tulisi aloittaa. Sopivan kohdan löydyttyä aloitetaan tarkastelu 40–60x-objektiivilla. Parhaiten solun tunnistaminen onnistuu kuitenkin 100x-objektiivilla, jolla nähdään tarkasti tuman rakenne sekä solunsisäiset kappaleet. (Bain 2001, 65-66.)

2.2 Veren valkosolut

Leukosyytit eli valkosolut ovat verisoluja, joiden tehtävänä on soluvälitteisestä ja humoraalisesta immuunivasteesta huolehtiminen ja ne kykenevät siirtymään verenkierrosta myös kudoksiin. Leukosyytit voidaan karkeasti jakaa granulosityytteihin ja agranulosityytteihin. Granulosityytteihin kuuluvat leukosyyteistä ne, joilla on tyypillisesti näkyvissä selkeä granula. Granulosityttejä ovat neutrofiilit, eosinofiilit ja basofiilit. Agranulositytteillä taas ei ole tyypillisesti näkyvissä olevaa selkeää granulaa. Agranulosityttejä ovat lymfosyytit ja monosyytit. (Solunetti 2006). Veren leukosyyttien viitearvot normaalitilassa aikuisilla ovat $3,4\text{--}8,2 \times 10^9 / \text{l}$. (Huslab 2010). Kuvia valkosoluista on liitteessä 1. (LIITE 1).

2.2.1 Perifeerisen veren valkosolut

Neutrofiileillä on kaksi eri muotoa: sauva- ja liuskatumainen. Sauvatumaisella muodolla tuma on yhtenäinen, käyrän muotoinen, kun taas liuskatumaisessa

neutrofiilissä tuma on jakautunut lohkoiksi, jotka ovat kiinnittyneitä toisiinsa filamenteilla. Tuman rakenne on erittäin tiivis. (LIITE 1). (Turgeon 1993, 132.)

Lymfosyyttejä on erotettavissa kahdenlaisia, pieniä ja isoja lymfosyyttejä. Pieni on kooltaan 6–9 µm. Tuma on muodoltaan pyöreä tai ovaali, ja kromatiini on tiheä ja näyttää paakkuiselta. Sytoplasma on vaalean taivaansininen ja sitä on niukasti. Noin 10 % perifeerisen veren lymfosyyteistä on isoja lymfosyyttejä. Sytoplasma on vaaleampaa, sitä on runsaammin ja se saattaa sisältää muutamia azurofiilisiä granuloita, jotka ovat punertavia. (LIITE 1). (Turgeon 1993, 157; Bain 2001, 95.)

Monosyytit ovat suurimpia valkosoluja verenkierrossa (halkaisijaltaan 15–18 µm). Niillä on siniharmaa sytoplasma, joka sisältää muuttuvan lukumäärän hienojakoista punertavaa granulaa. Tuma on suuri ja käyrä, usein hevosenkengän muotoinen, mutta saattaa olla taittunut tai kiertynyt. Tuma ei ole koskaan jaokkeellinen. Tuman kromatiini on hienojakoista ja tasaisemmin jakaantunutta kuin neutrofiilin tumassa. (LIITE 1). (Bain 2001, 95.)

Eosinofiilit ovat suurempia kuin neutrofiilit, halkaisijaltaan keskimäärin 12–17 µm. Niillä on yleensä kaksi tumalohkoa tai jaoketta, ja sytoplasma on täynnä selvästi erotettavia keltaisia tai oranssinvärisiä eosinofiilisiä granuloita. Granulan alle jäävä sytoplasma on kalpean sininen. (LIITE 1). (Bain 2001, 95.)

Basofiilit ovat normaalitilassa harvinaisimpia (<1 %) perifeerisen veren valkosoluista. Tunnusomainen suuri, kooltaan vaihteleva, tummansininen tai -violetti granula peittää usein tuman näkyvistä. (LIITE 1). (Bain 2001, 95.)

2.2.2 Luuytimen valkosolut

Blastit ovat leukeemisia verisolulinjojen varhaisimpia solumuotoja. Kromatiini on hienojakoinen ja sisältää yhdestä viiteen nukleolia. Sytoplasma on basofiilistä ja sitä on pieni kehä tuman ympärillä, eikä se sisällä granulaa. Solun koko vaihtelee sen mukaan minkä solulinjan blastista on kyse. Eri solulinjojen blasteja ei voi morfologisesti erottaa toisistaan. (LIITE 1). (Turgeon 1993, 131; Elonen 2007, 291.)

Promyelosyytti on toiseksi epäkypsin tunnistettavissa oleva granylosyyttisarjan solu. Promyelosyytin silmiinpistävä ominaisuus on karkea granula. Promyelosyytin halkaisija on 14–20 µm. Tuman kromatiini on tiivistyneempää kuin myeloblastissa.

Tuman koko suhteessa sytoplasmaan on pienempi ja sytoplasma on harmahtavan sinistä. (LIITE 1). (Turgeon 1993, 131.)

Myelosyytti on halkaisijaltaan 12–18 µm. Tuma on enemmän ovaalinmuotoinen kuin aiemmissa kypsyysasteissa. Nukleolit eivät ole enää näkyviä. Kromatiini on paljon tiivistyneempää kuin edellisissä vaiheissa. Tässä solun kehitysvaiheessa voidaan havaita viitteitä siitä onko solusta kehittymässä neutrofiili, eosinofiili vai basofiili. (LIITE 1). (Turgeon 1993, 131.)

Metamyelosyytin tuma on muodoltaan munuaismainen. Kromatiini on yhä myelosyyttistä tiivistyneempää ja spesifisen granulan väri on selkeämmin erotettavissa. (LIITE 1). (Turgeon 1993, 131-132.)

3 LEUKEMIAT

Leukemia on tautitila, jossa pahanlaatuisia verisoluja kertyy elimistöön. Leukemioihin liittyy valkosolujen hallitsematonta ylituotantoa, jolloin luuydin täyttyy ja epäkypsiä soluja pääsee perifeeriseen vereen. Leukemioita on useita eri tyyppisiä, jotka käyttäytyvät eri tavoin. Kaksi leukemioiden päätyyppiä ovat krooniset ja akuutit leukemiat. Toinen suuri jaottelu leukemioihin voidaan tehdä solujen erilaistumissuunnan mukaan lymfaattisiin ja myelooisiin muotoihin sen mukaan kumman solulinjan leukemiasta on kyse. Akuuteissa leukemioissa pahanlaatuiset verisolut ovat solulinjojen varhaisimpia muotoja kun taas kroonisissa leukemioissa malignit solut muistuttavat enemmän kypsiä solulinjojen päätesoluja. (Ruutu 2007, 651; Simmons 1997, 143.)

Leukemioiden diagnoosit perustuvat verenkuvaa- ja luuydinlöydöksiin. Luuytimen aspiraationäytteen tutkiminen eri leukemioiden diagnosoinnissa ja hoidon seurannassa on välttämätöntä. (Siitonen ym. 2007, 105; Ruutu 2010, 653-674.)

3.1 Krooninen myeloinen leukemia

Krooninen myeloinen leukemia (KML) kuuluu niin sanottuihin myeloproliferatiivisiin tiloihin. Sen hallitseva piirre on pääasiassa neutrofiilisarjan solujen runsaasta määrästä johtuva leukosytoosi. Yleisin KML on 40–70-vuotiaiden ikäryhmässä, kun taas lapsilla se on hyvin harvinainen. Kroonisen myelooisen leukemian osuus kaikkien leukemioiden joukosta on 20–25 %. Uusia tautitapauksia todetaan Suomessa 50–60 potilaalla vuodessa. (Porkka & Koistinen 2007, 324-326; Ruutu 2010, 663.)

KML:ssä erittelylaskennassa todetaan neutrofiilisarjan epäkypsiä eli solulinjan päätepistettä edeltäviä solumuotoja, kuten blasteja, promyelosyyttejä, ja varsinkin myelosyyttejä ja metamyelosyyttejä. Blastien osuus on yleensä alle 10 %. Basofiliaa esiintyy usein KML:n yhteydessä. (Porkka & Koistinen 2007, 324-326.)

3.2 Krooninen lymfaattinen leukemia

Krooninen lymfaattinen leukemia (KLL) on usein sattumalöydös. Lymfaattinen leukemia tarkoittaa sitä, että nimenomaan lymfaattisen solulinjan soluissa on muutoksia. Verenkuvasta todetaan leukosytoosi, joka paljastuu erittelylaskennassa

lymfosytoosiksi. Lymfocytoosilla tarkoitetaan lymfocyttien normaalia suurempaa määrää. Tarkemmissa tutkimuksissa soluissa todetaan lisäksi rakenteellisia poikkeavuuksia. KLL:ssä verenkuvasta on usein normaali lukuunottamatta lymfocytoosia. Muiden verisolujen absoluuttiset määrät ovat usein normaalit. Kaikista leukemioista noin kolmannes on kroonista lymfaattista leukemiaa. Suomessa uusia sairastumisia vuodessa todetaan noin 100. (Itälä & Vilpo 2007, 375-380; Ruutu 2010, 373.)

3.3 Akuutit leukemiat

Akuutit leukemiat ovat klonaalisia pahanlaatuisia verisairauksia. Akuuttien leukemioiden ominaispiirre on epäkypsien verisolujen lisääntyminen luuytimessä ja niiden ilmantuminen vereen. Akuuttien leukemioiden diagnoosi perustuu veri- ja luunäytteiden tutkimiseen. Akuutissa leukemiassa blasteja on luuytimessä yli 30 % tumallisista soluista, kun niitä normaalissa luuytimessä on alle 5 %. Pahanlaatuisten solujen erilaistumissuunnan perusteella leukemiat jaetaan myelooisiin ja lymfaattisiin leukemioihin ja kummatkin niistä useisiin alatyyppeihin joilla on omat biologiset ja kliiniset piirteensä. (Elonen 2007, 285-292; Ruutu 2010, 652.)

Aikuisten akuuteista leukemioista neljä viidesosaa on akuutteja myelooisia leukemioita (AML) ja yksi viidesosa akuutteja lymfaattisia leukemioita (ALL). Lapsilla valtaosa akuuteista leukemioista on lymfaattisia. AML:n riski alkaa suurentua 40 ikävuoden jälkeen ja se on hieman tavallisempi miehillä kuin naisilla. Lapsilla ALL:N ilmaantuvuuden huippu on viidennen ikävuoden kohdalla, aikuisilla ilmaantuvuus alkaa suurentua yli 60-vuotiailla. Suomessa akuutteja leukemioita todetaan noin 200 vuodessa. (Elonen 2007, 285-292; Ruutu 2010, 651.)

4 VERKKO-OPISKELU JA OHJELMOINTIKIELET

Verkko-opiskelu tarkoittaa laajaa kenttää erilaisia opiskelumenetelmiä, jotka hyödyntävät informaatio- ja kommunikaatioteknologiaa. Verkko-opiskelu koostuu useista erilaisista elementeistä, joita ovat esimerkiksi interaktiiviset sovellukset ja sähköiset oppimateriaalit. Verkko-opiskelun etuja ovat vapaus ajan paikan ja oman opiskelutahdin suhteen. (Clarke 2008, 2, 11.) Verkko-oppimateriaali voi olla lähiopetusta tukevaa tai täydentävää. Verkko-oppimateriaali voi perustua itsenäiseen etäopiskeluaineistoon, kuten erilaisiin systeemympäristöihin, joita ovat esimerkiksi erilaiset simulaatiot ja pelit. (Lindh & Parkkonen 2001, 147-148.)

Opetusohjelmat ja oppimispelit soveltuvat hyvin itsenäiseen opiskeluun, koska ne tukevat oppimista myös kotona ja vapaa-ajalla. Opetuspelien käyttäjä ei välttämättä edes koe olevansa oppijan roolissa, vaan oppiminen tapahtuu mielekkään toiminnan yhteydessä. Opetuspelit johdattelevat oppijaa kohti oppimistavoitetta luoden samalla oppimiseen jännitystä pelin dynamiikan välityksellä. Toiminnallinen oppiminen esimerkiksi opetuspelin avulla voi olennaisesti lisätä oppijan motivaatiota, mikä tukee itsenäistä opiskelua huomattavasti. Opetuspelien etuihin kuuluu myös niiden antama välitön ja neutraali palaute omasta oppimisesta ja oppijan kehityskohteista. (Bach, Haynes & Smith 2007, 39; Meisalo, Sutinen & Tarhio 2003, 144-147).

Simulaatiolla tarkoitetaan aktiivista mallintamista. Mallien varaan voidaan muodostaa simulaatioita, joilla havainnollistetaan todellisuuden ilmiöitä. Nykyisin simulaatioihin liittyy läheisesti tietokonepelit ja virtuaalitodellisuus. Opetuspeleissä on huomattu olevan huomattavaa motivoivaa vaikutusta. Simuloinnilla voidaan kohtuullisilla kustannuksilla saavuttaa oppimisympäristöjä, joilla voidaan keskittyä intensiiviseen vuorovaikutukseen ja tehokkaaseen työskentelyyn. (Meisalo ym. 2003, 138-141.)

Ohjelmaa suunnitellessa tulee ottaa huomioon tuotteen käytettävyyteen liittyviä tekijöitä. Käytettävyys tarkoittaa ohjelman sopivuutta sille tarkoitettuun tehtävään ja käyttäjille. Käytettävyyden suunnittelussa otetaan huomioon käyttäjä, käyttäjän suorittamat toiminnot sekä ohjelman testaaminen. (Tukiainen 2000, 302-303).

4.1 Interaktiivinen verkkoympäristö

Verkkoympäristön interaktiivisuus on tärkeä tekijä verkko-opiskelun kannalta. Interaktiivisuus tarkoittaa sitä, että materiaalit ja ympäristö reagoivat käyttäjänsä toimintaan sopivalla ja oppimista edesauttavalla tavalla. (Clarke 2008, 14.) Interaktiivinen verkko-opiskelu ympäristö esimerkiksi tuo mahdollisuuksia automaattiseen palautteen antoon. Palaute on välitöntä, eikä ohjaajan läsnäoloa vaadita. Tämä on merkittävä tekijä opiskelijan itsenäisen oppimisen seurannassa. (Bach ym. 2007, 39.)

Verkkotehtävissä kysymysten tulee olla tarkkaan valittuja, jotta ne vastaavat opiskelijan tarpeisiin. (Bach ym. 2007, 39.) Opinnäytetyönä työstetyssä ohjelmassa "kysymykset" ovat valkosoluista otettuja kuvia, joista solut täytyy tunnistaa. Monivalintatehtävät soveltuvat hyvin etäopiskeluun, koska ne mahdollistavat nopean ja yksiselitteisen palautteen. (Bach ym. 2007, 144).

4.2 Ohjelmointikielet

HTML tulee sanoista HyperText Markup Language. HTML luodaan verkkosivujen rakenne. Grafiikan ja skriptauksen avulla HTML- ohjelmointikieli toimii pohjana verkkosivustojen ja verkko-ohjelmien luomisessa. (W3C 2010.)

JavaScriptillä voidaan lisätä verkkosivujen interaktiivisuutta. Verkosta on saatavilla runsaasti valmista JavaScript-koodia, jota voi kopioida ja muokata omiin tarkoituksiin sopivaksi. JavaScriptillä voidaan luoda ohjelmia, jotka sijoitetaan HTML-sivulle. JavaScriptillä voidaan luoda dynaamisia HTML-sivuja, joiden sisältö määräytyy käyttäjän toiminnan mukaan. (Negrino & Smith 2007, 2, 6.)

Kaikki modernit selaimet sisältävät JavaScript-tulkin, mikä tekee JavaScriptistä kaikin laaja-alaisimmin käytetyn ohjelmointikielen. JavaScript vaatiikin toimiakseen vain web-selaimen ja tietokoneen selaimen käyttöä varten. Selaimen asetuksista JavaScript-komentosarjat tulee olla sallittuna. (Flanagan 2011, 1; Moncur 2000, 17.)

5 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET

Työn tarkoituksena on tehdä toimiva ja riittävän kattava erittelylaskentaa simuloiva harjoitusohjelma hematologisten solujen tunnistamiseen. Kattavuudella tarkoitetaan solukuvien riittävän määrän mahdollistamaa vaihtelua. Toimivuudella tarkoitetaan ohjelman ominaisuuksia, jotka toistuvasti hakevat kutakin kuvaa vastaavat tulokset, ja ohjelman antama palaute on totuudenmukainen. Työn pääasialliset menetelmät ovat solujen kuvaaminen ja ohjelmointi.

Työn tavoitteena on lisätä bioanalytiikan opiskelijoiden mahdollisuuksia harjoitella valkosolujen erittelylaskentaa ajasta tai paikasta riippumatta. Harjoitusmahdollisuuksia lisäämällä tuetaan valkosolujen erittelylaskenta taitojen kehittymistä. Taitojen kehittyminen heijastuu työelämässä luotettavampina tutkimustuloksina, mikä lisää diagnostiikan ja hoidon laatua.

6 TYÖN TOTEUTUS

6.1 Teoriatiedon haku

Teoriatietoa hankittiin toteuttamalla aineistohaku Savonia-ammattikorkeakoulun AAPELLI-tietokannasta. Hakusanoina käytettiin hematologiaa ja siihen liittyviä alakäsitteitä, verkko-opiskelua sekä ohjelmointia ja siihen liittyviä tarkoituksenmukaisia alakäsitteitä, kuten JavaScript ja HTML. Tietokanta kattaa Savonia-ammattikorkeakoulun kirjaston aineiston.

Tiedonhaussa keskityttiin erityisesti hematologian teoksiin. Opinnäytetyö käsittelee erittelylaskentaa, ja siksi juuri tähän teemaan haluttiin paneutua erityisen tarkasti. Samaa aihetta käsitteleviä tietoja haettiin lukuisista eri teoksista (esim. Veritaudit, Clinical Hematology, Practical Haematology ym.) mahdollisimman laajan näkökulman hankkimiseksi. Keskityimme sivelyvalmistetta, erittelylaskentaa ja solujen morfologiaa käsittelevien teemojen tutkimiseen.

6.2 Valkosolujen kuvaaminen

Solut kuvattiin Savonia-ammattikorkeakoulun Sairaalakadun kampuksella hematologian luokassa, josta löytyy kameratekniikalla varusteltu mikroskooppi. Käytetty mikroskooppi oli Olympus BX40 ja kameralaitteisto Nikon Digital Sight DS-U1, joka kiinnitettiin mikroskooppiin Olympus U-CMAD-2 välikappaleella. Kameran käyttämä kuvausohjelmisto oli ACT-2U. Lopulliseksi kuvamääräksi tuli reilut 1300 kuvaa, joista osa käännettiin ylösalaisin. Kuvaamiseen käytetyistä sivelyvalmisteista osa oli peräisin keskussairaalaharjoittelusta Savonlinnan keskussairaalassa, ja osa oli Sairaalakadun kampuksella opetuskäyttöön tarkoitettuja valmiita sivelyvalmisteita.

Eri soluista otettujen kuvien määrien keskinäiset suhteet oli tarkoitus laskea sen perusteella, millaisia keskimääräisiä arvoja kussakin taudinkuvassa lähdemateriaalin perusteella ilmeni. Tarkemman tarkastelun yhteydessä huomattiin kuitenkin, että variaatio eri solujen ilmenemisessä erilaisissa tautitiloissa on niin suurta, ettei tarkkoja suhdelukuja voi määrittää. Lopulta päädyttiin tautitiloja kuvaavien solujen esiintymisen suhdelukujen osalta kompromisseihin, joissa on pyritty tuomaan esille soluja kunkin tautitilan eri muotojen ja vaiheiden välimaastosta.

Solumäärien keskinäisiä suhdelukuja päätettäessä otettiin huomioon pedagoginen eli opetuksellinen näkökulma. Vaikeammin tunnistettavia soluja päätettiin juuri pedagogisista syistä laittaa ohjelmaa hieman korostettuja määriä. Käytännössä lähdeaineistosta poimittiin FAB-luokituksia (French-American-British Classification) vastaavia solumääriä ja valikoitiin oman arvion mukaisesti solujen määrää ilmentäviä arvoja. Arvion perustana oli oma näkemys siitä, minkälainen solujakauma parhaiten palvelee nimenomaan solujen tunnistamisen harjoittelua. Ohjelman perimmäisenä tarkoituksena on kuitenkin olla nimenomaan solujen tunnistamisen harjoitteluun soveltuva työkalu. Lähdemateriaalissa (Lewis 2001, 12; Simmons 1997, 144-158) esiintyneitä solusuhteiden kuvauksia on esitetty taulukossa 1. (TAULUKKO 1).

Taulukko 1. Esimerkkejä tavanomaisista löydöksistä eri leukemioissa ja normaalissa verenkuvassa.

	Tavanomaiset löydökset
Normaali verenk kuva	Neutrofiilejä 40-80%, Lymfosyyttejä 20-40%, Monosyyttejä 2-10%, Eosinofiilejä 1-6%, Basofiilejä <1-2%
Akuutti myeloinen (FAB M4)	>20% monosyyttejä, >20% myeloblasteja ja promyelosyyttejä
Akuutti lymfaattinen	Hallitseva solutyyppi on lymfoblasti
Krooninen myeloinen	Blastikriisin aikana voimakas leukosytoosi, esiintyy myeloblasteja, promyelosyyttejä, myelosyyttejä sekä metamyelosyyttejä
Krooninen lymfaattinen	Leukosytoosi, joka erittelylaskennassa osoittautuu lymfosytoosiksi

Kuvattujen solujen tarkkuuden oli oltava riittävä tunnistamisen mahdollistamiseksi. Solujen tuman rakenne, sytoplasma ja granula oli saatava näkymään niin tarkasti, että niiden morfologiset tunnuspiirteet olivat näkyvillä (esim. blastien nukleolit). Kuvien ottamiseen oli käytettävä tarkkuutta ja huolellisuutta parhaan mahdollisen kuvanlaadun saavuttamiseksi käytettävissä olevan laitteiston sallimissa rajoissa. Solut kuvattiin käyttäen 100x objektiivia.

Ohjelman kattavuus turvattiin suurella kuvamäärällä, jolloin samojen kuvien toistuvuus ohjelmassa pyrittiin minimoimaan. Kattavuuden turvaamiseksi myös samaan

kategoriaan laskettavista soluista oli oltava erilaisia variaatioita, koska varsinkin erilaisissa tautitiloissa solun morfologia voi muuttua. Variaatiota pyrimme luomaan käyttämällä useista eri henkilöistä otettuja näytteitä. Solujen tunnistamisen suoritimme alustavasti itse, mutta lopullisen päätöksen tekemiseen käytimme ammattilaisen konsultaatiota.

6.3 Ohjelma

Ohjelma on perifeerisen veren valkosolujen erittelylaskentaa simuloiva harjoitusohjelma. Ohjelman nimi Vendi on johdettu sanoista sanoista virtuaalinen diffi. Diffi on erittelylaskennan tutkimusnimike laboratoriotyössä.

6.3.1 Ohjelmointi

Ohjelman ohjelmointikielenä käytettiin JavaScriptiä ja HTML:ää. Ohjelmointikielet soveltuvat käyttötarkoitukseen mainiosti. On kuitenkin olemassa myös paljon muita ohjelmointikieliä, joista osa on maksullisia ja haastavia. Opinnäytetyön tarkoituksena ei kuitenkaan ollut opetella ohjelmointia laajassa mittakaavassa, vaan tuottaa ohjelma. JavaScriptin valintaan käytettäväksi ohjelmointikieleksi vaikutti se, että kyseinen vaihtoehto ei ole käyttöjärjestelmäsidonainen, sen käyttö on ilmaista ja se on helppo sijoittaa verkkoympäristöön. Ohjelmointia suoritettiin muiden työvaiheiden ohella tietojen ja materiaalin karttuessa.

Ohjelmointi toteutettiin ToniArtsin tuottamalla EasyHTML-ohjelmalla, joka on niin sanottu HTML-editori. Ohjelma oli täysin ilmainen, helppokäyttöinen ja sen avulla oli koko ajan helppo seurata koodin tuottamaa toimintoa ja uusien komponenttien toimivuutta. EasyHTML myös ilmoitti koodissa piilevistä virheistä, joten koodissa esiintyvien ongelmien löytäminen ja korjaaminen oli helpompaa. JavaScript-koodia löytyy paljon verkosta, ja valmiista koodinpätkistä saimme hyödyllisiä vinkkejä oman koodin rakentamiseen.

Ohjelman ominaisuuksiksi valittiin erilaisia komponentteja, joiden tarkoituksena oli luoda mahdollisimman hyvät harjoitteluvaihtoehdot. Ensimmäinen komponentti tarjoaa mahdollisuuden valita harjoitusmateriaali taudinkuvan mukaan. Vaihtoehtoina ovat krooninen myeloinen leukemia, krooninen lymfaattinen leukemia, akuutti myeloinen leukemia, akuutti lymfaattinen leukemia, normaali verenkuva sekä satunnainen vaihtoehto, joka valitsee yhden edellä mainituista vaihtoehdoista ilman, että käyttäjä etu-

käteen tietää mistä taudinkuvasta on kyse. Tällä komponentilla pyrittiin luomaan mahdollisuus selektiiviseen harjoitteluun ja toisaalta myös eri vaikeustasojen luomiseen. Selektiivisyydellä tarkoitetaan sitä, että harjoittelijalla on mahdollisuus valita, minkä tyyppisiä soluja ohjelma valitsee tunnistettavaksi. Esimerkiksi morfologian harjoittelun alkuvaiheessa on helpompaa valita tunnettu tautitila tai normaali verenkuvaa, koska silloin tietää, minkä tyyppisiä soluja sivelyvalmisteesta tulisi löytyä. Satunnaisessa vaihtoehdossa käyttäjä ei etukäteen tiedä mitä soluja ohjelma tulee enimmäkseen esittämään, mikä vastaa todellista tilannetta työelämässä ja nostaa harjoituksen vaikeustasoa.

Toisen komponentin avulla ohjelma arpoo 100 kuvaa satunnaisesti valitun taudinkuvan mukaan. Jotta ohjelman antamat kuvat vastaisivat mahdollisimman realistisesti käyttäjän taudinkuvaa koskevaa valintaa, ohjelma hakee kuvat käyttäjän valintaa vastaavasta kansioista, johon on syötetty kuvia soluista kuhunkin taudinkuvaan sopivien suhteiden mukaisesti. Ohjelma ei siis anna aina samaa suhdetta eri solujen esiintyvyyteen vaan ainoastaan todennäköisyyden tietyn solutyypin esiintymiselle. Näin saadaan joka kerta hieman erilaisia suhdelukuvia eri solutyypien esiintymiselle, mikä vastaa myös todellista tilannetta. Kussakin eri taudinkuvassa ja normaalissa verenkuvassa käytetyt solumäärät ja suhdeluvut on esitetty taulukossa 2. (TAULUKKO 2).

Taulukko 2: Ohjelmassa käytettyjen solujen määrät ja suhdeluvut

	Blastit	Prom	Myel	Meta	Neut	Eos	Baso	Lymf	Mono	Yht
Normaali verenkuvaa	0 0,0 %	0 0,0 %	0 0,0 %	0 0,0 %	395 58,8 %	19 2,8 %	2 0,3 %	229 34,1 %	27 4,0 %	672 100,0 %
KML	90 15,0 %	24 4,0 %	66 11,0 %	36 6,0 %	288 48,0 %	12 2,0 %	6 1,0 %	72 12,0 %	6 1,0 %	600 100,0 %
KLL	0 0,0 %	0 0,0 %	0 0,0 %	0 0,0 %	120 19,9 %	12 2,0 %	6 1,0 %	452 75,1 %	12 2,0 %	602 100,0 %
AML	402 66,3 %	24 4,0 %	71 11,7 %	37 6,1 %	30 5,0 %	6 1,0 %	0 0,0 %	30 5,0 %	6 1,0 %	606 100,0 %
ALL	421 80,0 %	0 0,0 %	0 0,0 %	0 0,0 %	26 4,9 %	0 0,0 %	0 0,0 %	79 15,0 %	0 0,0 %	526 100,0 %

Kolmannen komponentin avulla ohjelman antaa tiedon yksittäisten solujen tunnistuksesta. Ohjelma kertoo mitkä vastaukset ovat oikein ja mitkä väärin. Palautteen avulla ohjelman käyttökelpoisuus ja oppimisen tehokkuus paranevat olennaisesti. Totuudenmukaisen vastauksen ja palautteen aikaansaamiseksi ohjelmasta rakennettiin toimintaperiaatteeltaan mahdollisimman suoraviivainen ja sitä testattiin aktiivisesti

erilaisten virhelähteiden selvittämiseksi ja mahdollisten käyttöhäiriöiden poistamiseksi. Testaamisella tarkoitetaan ohjelman koekäyttöä ongelmien havaitsemiseksi. Totuudenmukaisen palautteen näkökulmasta oli ensisijaisen tärkeää, että kuvatut solut ovat alun perin tunnistettu oikein ja tunnistetiedot on syötetty ohjelmaan oikein.

Neljäs komponentti sisältää kunniakirjaosuuden. Ohjelma avaa selaimeen uudelle välilehdelle kunniakirjan, mikäli 95 % soluista on tunnistettu oikein, kun "Tarkista"-painiketta painetaan ensimmäisen kerran.

Ohjelman toteutuksessa päädyttiin monivalintatyypin käyttömalliin. Monivalintamahdollisuus on ohjelman viides tärkeä komponentti. Valintaan vaikutti se, että ohjelman on nimenomaan tarkoitus simuloida valkosolujen erittelylaskentaa, jossa on valittava tarkastelun perusteella jokin solumuodoista.

6.3.2 Ohjelman käyttö

Ohjelman käyttö aloitetaan aloitussivulta, jossa käyttäjälle annetaan valittavaksi vaihtoehdot verenkuvista. Aloitussivulta pääsee myös ohjeistussivulle, josta löytyy tietoja ohjelman käytöstä ja solujen tunnistamisesta. Aloitussivulla annetut vaihtoehdot on esitetty painikkeina, joita klikkaamalla avautuu haluttu ominaisuus. Takaisin aloitussivulle pääsee selaimen "siirry edelliselle sivulle"-painikkeesta.

Kun ohjelman käyttäjä valitsee jonkin tarjolla olevista verenkuvista, ohjelma avaa sivun, jolle kuvat tulostuvat. Kuvien vasemmalla puolella on näkökentän järjestyslukua kuvaava numero (1-100). Kuvien oikealla puolella on valintalista, josta käyttäjä voi valita tunnistamansa solutyyppin. Käyttäjä tunnistaa jokaisen solun ja valitsee sitä vastaavan vaihtoehdon valintalistasta. Kun kaikki sata solua on tunnistettu, käyttäjä painaa sivun alareunasta löytyvää "Tarkista"-painiketta. Painiketta klikattaessa ohjelma ilmoittaa, kuinka monta solua on tunnistettu oikein. Samalla ohjelma värittää kuvan vasemmalla puolella olevan alueen joko vihreäksi tai punaiseksi sen mukaan oliko vastaus oikein vai väärin (vihreä = oikein, punainen = väärin). Mikäli soluja on jäänyt tunnistamatta (valintalistasta ei ole valittu solua), ohjelma ilmoittaa moneenko kysymykseen on jäänyt vastaamatta. Väärin vastattuja kuvia voi tarkistuksen jälkeen yrittää tunnistaa uudelleen valitsemalla valintalistasta toisen vaihtoehdon ja klikkaamalla "Tarkista"-painiketta uudelleen.

Käyttäjän tunnistaessa oikein 95 tai enemmän soluista, ohjelma avaa uuteen välileh-
teen kunniakirjan, jonka käyttäjä voi tulostaa. Kunniakirja on lisätty ohjelman kom-
ponentteihin lisäämään käyttäjän motivaatiota. Kunniakirjan voi saada vain klikatta-
essa "Tarkista"-painiketta ensimmäisen kerran. Vaihtamalla välilehteä käyttäjä pää-
see takaisin solujen tunnistusikkunaan, josta käyttäjä voi tarkastella vastauksiaan.

7 POHDINTA

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa valkosolujen erittelylaskentaa simuloiva ohjelma Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikko-opiskelijoiden käyttöön. Opinnäytetyön aihe oli kiinnostava, sillä niin hematologiaan liittyvä aihepiiri kuin tietokoneella työskentely koettiin mielekkääksi. Opinnäytetyön tekeminen käynnistyi heti kun aihe saatiin ja prosessi eteni suhteellisen ongelmattomasti alun pienten vaikeuksien jälkeen. Projekti eteni pikkuhiljaa tietojen, taitojen ja materiaalin karttuessa.

Opinnäytetyön aloittaminen vaati pitkää perehtymistä käytettyyn ohjelmointikieleen. Ohjelmointi oli aluksi hyvin haastavaa, sillä aikaisempaa kokemusta ohjelmoinnista ei juuri ollut. Internetistä on saatavilla paljon erillisiä koodikokonaisuuksia jotka ovat ilmaisia, ja joista on helppo ottaa mallia ohjelmointiin. Mallien avulla päästiin hyvin alkuun, ja alkuvaikeuksien jälkeen uusia komponentteja saatiin lisättyä yllättävän helposti. Ohjelmisto alkoi kehittyä jo ennen kuin yhtään kuvaa soluista oltiin otettu. Kun kuvia saatiin otettua käyttöä varten, ohjelmiston pohja ja käyttökelpoisuus alkoi kehittyä.

Käytetyt solut kuvattiin Savonia-ammattikorkeakoulun Sairaalakadun kampuksen hematologian luokassa sieltä löytyvän laitteiston avulla. Laitteistoa saatiin käyttää melko vapaasti, kunhan tilassa ei ollut opetusta. Kuvaaminen itsessään oli helppoa, vaikeinta oli löytää käyttökelpoisia sivelyvalmisteita ja niistä erillisiä ja selkeitä soluja. Tässä osiossa apua saatiin hematologian harjoittelujaksolta Savonlinnan keskussairaalan laboratorion henkilökunnan antaessa sivelyvalmisteita käyttöömme. Suhteellisen tuoreista sivelyvalmisteista saatiin paljon parempia kuvia kuin koulun vanhoista sivelyvalmisteista. Opinnäytetyötä varten tehtiin myös muutamia uusia sivelyvalmisteita, jotta saataisiin mahdollisimman tuoretta materiaalia laadukkaiden kuvien saamiseksi.

Kuvaamiseen liittyi jonkin verran laitteistosta johtuvia ongelmia. Kuvaamiseen käytetty laiteohjelmisto, ACT-2U, oli erittäin epävakaa ja kaatui usein, mikä olennaisesti hidasti kuvaamista ja samalla koko prosessia.

Opinnäytetyötä tehdessä saatiin runsaasti harjoitusta valkosolujen erittelyyn. Taitojen kehittyminen toi luottamusta ja varmuutta omaan osaamiseen. Solujen tunnistaminen

on opinnäytetyön tekemisen myötä tuntunut paljon helpommalta kuin ennen opinnäytetyöprosessin alkua.

Tavoitteiden mukainen tuote saatiin aikaiseksi kohtuullisen helposti ottaen huomioon, ettei ohjelmointi kuulu bioanalytiikan koulutusohjelman opintoihin. Oli hyvin haastavaa tehdä ohjelmaa ilman koulutusta, vaikka kyseessä onkin ilmainen ohjelmointikieli, johon pystyy helposti etsimään ohjeita ja malleja. Ohjelmassa on ominaisuuksia, jotka ohjelmointiin erikoistunut henkilö olisi voinut tehdä paremmin. Koska koulutusta ohjelmointiin ei ollut, ei myöskään voida vaatia aivan täydellistä ohjelmaa. Tuote on kuitenkin oman arviomme mukaan hyvin soveltuva oppimisen apuvälineeksi, ja palaute ohjelmaa koekäyttäneiltä henkilöiltä on ollut positiivista. Saamamme palautteen johdosta ohjelman uskotaan olevan hyödyllinen apuväline valkosolujen erittelylaskennan harjoittelussa.

Ohjelman lopullista sijoitusympäristöä ei ole vielä päätetty. Paras sijoitusympäristö on sellainen, joka sallii ohjelman käytön myös kotoa käsin. Käytännössä ohjelman tulee siis olla joko verkkoympäristössä tai koulun keskuskovallevyllä, josta sitä käytetään etäyhteyden avulla. Verkkoympäristöön sijoitettaessa Savonia-amk:n Moodle-ympäristö on hyvä vaihtoehto, sillä verkkoympäristö on jo valmiiksi olemassa ja se on opiskelijoiden käytössä ajasta tai paikasta riippumatta.

Ohjelman kaupallistamista on myös pohdittu. Tehdystä ohjelmasta voi pienellä jaloituksella saada aikaan tuotteen, jota voi markkinoida myös muiden saman alan oppilaitosten käyttöön. Kiireet opinnäytetyön ja muiden opintojen suhteen ovat kuitenkin toistaiseksi vieneet niin paljon aikaa, ettei mahdollista kaupallistamista ole ehtinyt kunnolla pohtia.

Opinnäytetyöprosessi ei edennyt täysin loogisessa järjestyksessä sillä itse ohjelman komponentit ja suuri osa kuvista oli otettu ennen ensimmäistä työpajaa. Myös seminaarien pitäminen on jäänyt suhteellisen myöhäiseen ajankohtaan itse opinnäytetyön edistymiseen nähden. Kokonaisuutena tämän opinnäytetyön tekeminen oli kuitenkin mielekäs kokemus ja olemme tyytyväisiä lopputulokseen.

Eettiset tekijät on huomioitu tässä opinnäytetyössä siten, että henkilöitä, joiden verestä työssä käytetyt sivelyvalmisteet on tehty, ei voi tunnistaa. Myös lähteet ja lähdeviitteet on merkitty asianmukaisesti. Opinnäytetyön luotettavuuden varmistamiseksi solujen tunnistamiseen käytettiin oman tunnistuksen lisäksi ammattilaisen konsultaatio-

ta. Luotettavuutta lisää myös ohjelman aktiivinen testaaminen itse ja koekäyttäjien toimesta.

7.1 Ohjelman testaaminen

Ohjelman testaaminen oli tärkeä työvaihe. Ohjelman koekäyttäjinä toimivat bioanalytiikan koulutusohjelman opiskelijat. Ohjelmaa käytiin esittelemässä hematologian harjoitustunneilla, jossa oli paikalla 12 bioanalytiikan opiskelijaa. Opiskelijat koekäyttivät ohjelmaa harjoitustuntien aikana ja antoivat palautetta käytön yhteydessä. Harjoitustunneilla koekäyttäjät huomasivat osan kuvista olevan epäselviä ja muutamat kuvat oli vielä siinä kehitysvaiheessa nimetty väärin. Koekäytön jälkeen huonolaatuiset ja väärin nimetyt kuvat etsittiin ja virheet korjattiin.

Testaamiseen kuului myös ohjelman esittely opinnäytetyöprosessiin kuuluvien työpajojen yhteydessä. Työpajoissa muut osallistujat antoivat tärkeitä vinkkejä ohjelman kehittämiseen. Työpajoissa saatujen vinkkien johdosta ohjelman palautejärjestelmää muokattiin selkeämmäksi, visuaalista ulkoasua paranneltiin ja painikkeiden kokoa kasvatettiin.

Suurin osa testaamisesta toteutettiin itse. Käytännössä oma testaaminen oli ohjelman käyttö lukuisia kertoja mahdollisten virheiden esiintymisen havaitsemiseksi. Ohjelmaa testattiin useita tunteja aina kun uusia ominaisuuksia lisättiin, jotta saataisiin selville saivatko muutokset lähdekoodissa aikaan halutun tuloksen ja toisaalta myös muutosten mahdollisten negatiivisten vaikutuksien selvittämiseksi. Oman testaamisen kautta ohjelmasta löydettiin useita kuvan nimeämiseen ja lähdekoodin tarkkuuteen liittyviä virheitä, jotka korjattiin.

7.2 Ohjelman käytettävyys

Yksi tärkeimmistä käsitteistä itse ohjelmaan liittyen on käytettävyys. Käytettävyys ei ole yksiselitteinen käsite vaan useista eri tekijöistä koostuva kokonaisuus. Tuotetun ohjelman yhteydessä käytettävyyden voi jakaa kahteen osaan. Itse ohjelman mekaaniseen käytettävyyteen ja ohjelman käytettävyyteen opetuksen ja oppimisen apuvälineenä.

Itse ohjelman käytettävyyteen liittyviä piirteitä ovat helppokäyttöisyys ja ohjelman soveltuvuus simuloimaan valkosolujen erittelylaskentaa. Ohjelmasta tehtiin mahdolli-

simman suoraviivainen, ja ohjelman sisälle luotiin mahdollisimman yksityiskohtaiset ja ymmärrettävät ohjeet ohjelman käytöstä. Saamamme palautteen mukaan ohjelmaa on helppo käyttää ilman erillistä ohjausta. Ohjelma muovattiin omien ohjelmointitaitojen asettamissa rajoissa muistuttamaan mahdollisimman tarkasti valkosolujen erittelylaskentaa vastaavaksi. Tunnistettavia soluja on 100, joista jokainen on tunnistettava. Tärkein ohjelman ominaisuus onnistuneen simulaation luomisessa on kuitenkin eri verenkuvien valintamahdollisuus ja "Satunnainen"-painike, joka antaa tarjolla olevista verenkuvavaihtoehdoista parhaan vasteen todellista erittelylaskentatilannetta ajatellen. Lisäksi ohjelma antaa kuvien satunnaisen valinnan kautta joka kerta hieman erilaiset solumäärien suhdeluvut kuhunkin verenkuvaan, mikä myös vastaa todellista tilannetta.

Ohjelman käytettävyyttä oppimisen ja opetuksen apuvälineenä on vielä tässä vaiheessa hieman vaikeaa arvioida. Saatu palaute on positiivista ja kannustavaa ja Savonia-ammattikorkeakoulun Sairaalakadun kampuksen hematologian opetuksesta vastaava opettaja uskoo ohjelman olevan opiskelijoille hyödyllinen apuväline valkosolujen tunnistamisen harjoittelussa, ja ohjelmaa käyttäneiden opiskelijoiden palaute on samansuuntainen. Ohjelman merkitys on suurin bioanalyytikon opiskelijoille, mutta myös opettajalla on mahdollisuus hyötyä ohjelmasta. Esimerkiksi ohjelman tulostamaa kunniakirjaa voi käyttää hyödyksi arvioitaessa opiskelijan osaamista.

Ohjelman pedagogiset ominaisuudet tukevat itsenäistä opiskelua. Ohjelman tärkein pedagoginen ominaisuus on sen pelinomainen luonne, mikä tuo oppimiseen mielekkyyttä ja helpottaa irtautumista perinteisestä mekaanisesta opiskelusta. Ohjelma kannustaa käyttäjää kunniakirjan avulla parempiin tuloksiin ja antaa välitöntä palautetta oppimisesta. Oppijan ei tarvitse "pelätä" negatiivista palautetta, koska pelin antama palaute on neutraalia, ja oppija voi kokeilla erilaisia vaihtoehtoja vapautuneemmin.

7.3 Kehittämismahdollisuuksia

Ohjelman kehittämismahdollisuuksia on pohdittu ja yksi hyvä tapa kehittää ohjelmaa on lisätä kuvamäärää huomattavasti. Suuremman kuvamäärän avulla ohjelman kattavuus paranee olennaisesti variaation lisääntyessä. Variaatiota voi parantaa myös ottamalla kuvia mahdollisimman usean henkilön verinäytteistä tehtyjen sivelyvalmisteen soluista, koska valkosoluissa voi olla eri henkilöillä morfologisia eroavaisuuksia varsinkin erilaisissa tautitiloissa.

Ohjelmaa voi kehittää myös lisäämällä eri verenkuvavaihtoehtoja ja niihin kuuluvia soluja. Esimerkiksi karvasoluleukemia tai monosyyttileukemia sopivat ohjelmaan lisääväiksi verenkuvavaihtoehtoiksi hyvin. Vaikka edellä mainitut esimerkit ovat esiintyvyydeltään harvinaisempia, ne tuovat ohjelmaan laajuutta ja tekevät siitä entistä paremmin soveltuvan jo työssä olevien bioanalyytikkojen käyttöön.

Kolmas kehittämissuositus on tutkia ohjelman soveltuvuutta sen käyttötarkoitukseen. Käytännössä tämä tarkoittaa tutkimusta, jossa selvitetään ohjelman opetuksellista hyötyä ja ohjelmaa käyttäneiden henkilöiden kokemuksia ohjelman hyödyllisyydestä. Tutkimukseen voi sisällyttää myös työelämässä olevien bioanalyytikkojen kokemuksia ohjelman soveltuvuudesta hematologisten solujen tunnistamisen harjoitteluun ja tunnistustaitojen ylläpitämiseen.

8 LÄHTEET

Bach, S., Haynes, P. & Smith, J. 2007. *Online Learning and Teaching in Higher Education*. Berkshire: Open University Press.

Bain, B. 2001. *Blood cell morphology in health and disease*. Teoksessa Lewis, S.M., Bain, B. & Bates, I. Dacie and Lewis: Practical Haematology. Yhdeksäs painos. Churchill Livingstone. 65-100.

Bain, B. & Lewis, S.M. 2001. *Preparation and staining methods for blood and bone marrow films*. Teoksessa Lewis, S.M., Bain, B. & Bates, I. Dacie and Lewis: Practical Haematology. Yhdeksäs painos. Churchill Livingstone. 47-64.

Clarke, A. 2008. *e-Learning Skills*. Toinen painos. Hampshire ja New York: PALGRAVE MACMILLAN.

Elonen, E. 2007. *Akuutit leukemiat*. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Flanagan, D. 2011. *JavaScript: The Definitive Guide*. Kuudes painos. Sebastopol: O'Reilly Media, Inc.

Huotari, V. & Ruotsalainen, M. 2011. Opinnäytetyössä käytetyt kuvat veren valkosoluista.

Huslab 2010. Perusverenkuva, leukosyyttien erittelylaskenta, koneellinen, verestä. Päivitetty 1.10.2010. Viitattu 26.10.2011. Saatavissa: <http://www.huslab.fi/ohjekirja/2475.html>

Itälä, M. & Vilpo, J. 2007. *Krooninen lymfaattinen leukemia ja muut lymfosytoosit*. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Lewis, S.M. 2001. *Reference ranges and normal values*. Teoksessa Lewis, S.M., Bain, B. & Bates, I. Dacie and Lewis: Practical Haematology. Yhdeksäs painos. Churchill Livingstone. 9-18.

Lindh, K. & Parkkonen, M. 2001. *Oppimateriaali verkossa*. Teoksessa Matikainen, J. & Manninen, J. (toim.) Aikuiskoulutus verkossa - Verkkopohjaisten oppimisympäristöjen teoriaa ja käytäntöä. Tampere: Palmenia-kustannus. 147-158.

Meisalo, V., Sutinen, E. & Tarhio, J. 2003. *Modernit oppimisympäristöt*. Helsinki: Tietosanoma Oy.

Moncur, M. 2000. *JavaScript Trainer*. Jyväskylä: Oy Edita Ab.

Negrino, T. & Smith, D. 2007. *JavaScript - Tehokas hallinta*. Jyväskylä: Readme.fi.

Opetussuunnitelma. 2011. *Bioanalytiikan koulutusohjelma*. Viitattu 6.10.2011. Kuopio: Savonia-ammattikorkeakoulu. Saatavissa: <http://portal.savonia.fi/testi/opiskelijalle/opiskelu/opetussuunnitelmat/>

Porkka, K. & Koistinen, P. 2007. *Krooninen myeloinen leukemia*. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Ruutu, T. 2007. *Leukemia, myelodysplastiset oireyhtymät ja myeloproliferatiiviset tilat*. Teoksessa Joensuu, H., Roberts, P., Teppo, L. & Tenhunen, M. (toim.) Syöpätaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 607-679.

Savolainen E-R. 2007. *Verinäytteet ja verenkuvatutkimukset*. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 85-99.

Siitonen, S. & Jansson, S-E. 2007. *Morfologiset tutkimukset*. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 100-111.

Simmons, A. 1997. *Hematology: A Combined Theoretical and Technical Approach*. Toinen painos. Boston: Butterworth-Heinemann.



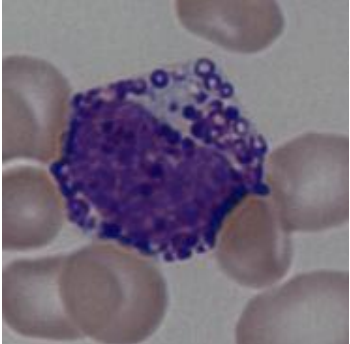
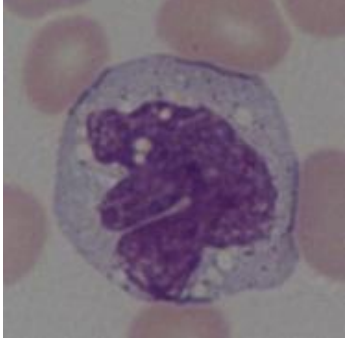
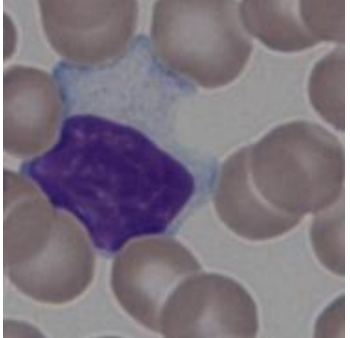
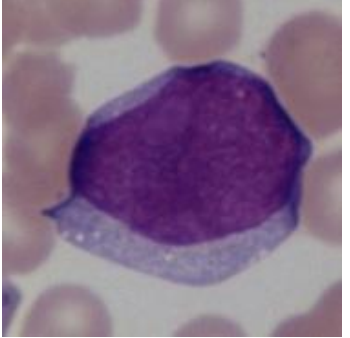
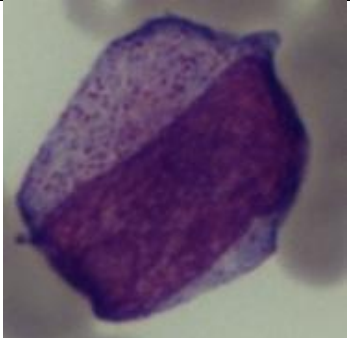

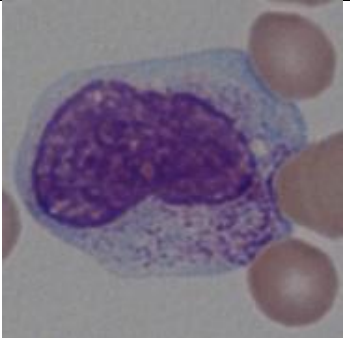
Solunetti 2006. *Leukosyytit eli valkosolut*. Viitattu 26.10.2011. Saatavissa: <http://www.solunetti.fi/fi/histologia/leukosyytit/>

Tukiainen, M. 2000. *Ohjelmien käytettävyyden suunnittelu*. Teoksessa Meisalo, V., Sutinen, E. & Tarhio, J. Modernit oppimisympäristöt: Tietotekniikan opetuksen ja oppimisen tukena. Helsinki: Tietosanoma Oy. 302-310.

Turgeon, M. 1993. *Clinical Hematology: Theory and Procedures*. Toinen painos. Boston: Little Brouwn and Company.

W3C. 2010. *HTML & CSS*. Viitattu 6.10.2011. Saatavissa: <http://www.w3.org/standards/webdesign/htmlcss>

LIITE 1 Esimerkkikuvia veren valkosoluista

		
NEUTROFIILINEN GRA- NULOSYYTTI	EOSINOFIILINEN GRA- NULOSYYTTI	BASOFIILINEN GRANU- LOSYYTTI
		
MONOSYYTTI	LYMFOSYYTTI	BLASTI
		
PROMYELOSYYTTI	MYELOSYYTTI	METAMYELOSYYTTI

(Huotari & Ruotsalainen 2011.)

